Ueber

das Vorkommen von Phenol im menschlichen Harn und die quantitative Bestimmung desselben nach innerlicher Darreichung von Benzol.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medicinischen Doctorwürde

vorgelegt der

medicinischen Facultät zu Erlangen

am 31. März 1886

von

Franz Demetz,
approb. Arzt aus St. Ingbert (Pfalz).

Druck von F. X Demetz in St. Ingbert.

Ueber

das Vorkommen von Phenol im menschlichen Harn und die quantitative Bestimmung desselben nach innerlicher Darreichung von Benzol.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medicinischen Doctorwürde

vorgelegt der

medicinischen Facultät zu Erlangen

am 31 März 1886

von

Franz Demetz,

approb. Arzt aus St. Ingbert (Pfalz).

Druck von F. X. Demetz in St. Ingbert.

Gedruckt mit Genehmigung der medicinischen Facultät.
Ref.: Herr Prof. Dr. Heineke.

Die folgenden Untersuchungen sind auf Veranlassung und mit freundlicher Unterstützung des Herrn Privatdocenten Dr. R. Fleischer im chemischen Laboratorium der medicinischen Klinik zu Erlangen ausgeführt worden.

Seitdem durch exacte Untersuchungen der Nachweis geliefert wurde, dass im gesunden und im kranken Organismus häufig wenn auch nur geringe Mengen Phenol sich finden, und constatirt worden ist, dass die Quelle der Phenolbildung besonders im Darm zu suchen ist, wurde eine grössere Anzahl von Beobachtungen angestellt, um bei verschiedenen Krankheiten, ferner bei rein animalischer und gemischter Kost die Menge des mit dem Harn ausgeschiedenen Phenols genau zu bestimmen. So hat J. Munk[1]) gefunden, dass bei rein animalischer Kost mit der 24stündigen Harnmenge von Gesunden 0,006 Tribromphenol eliminirt wurde; bei gemischter Kost stieg die Menge des ausgeführten Phenols bis auf 0,0165 gr. Dagegen fand Brieger bei gesunden kräftigen Individuen, die gemischte Kost nahmen, 0,013 bis 0,099 Tribromphenol in 24 Stunden, entsprechend 0,003—0,028 Phenol. Weitere Untersuchungen über das Vorkommen von Phenol im Harn wurden von Salkowski[2]) angestellt, nachdem E. Baumann[3])

1) Berichte der deutschen chem. Gesellschaft X.
2) Zeitschrift f. physiol. Chemie II. 241.
3) Virchow's Archiv 73. 409.

gezeigt hatte, dass bei der Fäulniss von Eiweiss und Pankreas grössere Mengen von Phenol entstehen, und zwar fand Salkowski, dass bei stärkeren Stuhlverstopfungen bedingt durch Trägheit des Darmes, ferner bei Peritonitis und Ileus die Phenolausscheidung im Harne beträchtlich zunehme; bei einem Fall von Peritonitis, welche unter dem Bilde des Ileus verlief, fand er in 200 cc. Harn 0,198—0,3115 Tribromphenol entsprechend ungefähr 0,06—0,1 Phenol, also eine sehr beträchtliche Phenolausscheidung. Später sind dann von Brieger[1]) bei einer grösseren Reihe von Kranken quantitative Phenolbestimmungen ausgeführt worden; dabei zeigte sich, dass bei perniciöser Anämie, Chlorose, Scorbut und Scrophulose, bei Magenkatarrhen und Magengeschwüren eine Verminderung, bei Cholera, bei Tetanus, besonders aber bei jauchigem Empyem eine beträchtliche Zunahme des Phenols im Harn zu constatiren war. Aus diesen Untersuchungen geht zweifellos hervor, wie wichtig und wie interessant sowohl im praktischen als theoretischen Sinn die quantitative Bestimmung des Phenols für die Diagnose ist. Seitdem fernerhin die Carbolsäure als Antisepticum und Desinficiens in die praktische Medicin, vor allem aber in die Chirurgie eingeführt worden ist, beansprucht sicherlich auch die qualitative Bestimmung des Phenols im Harn ein lebhafteres Interesse, besonders nachdem eine grössere Anzahl von Vergiftungen durch Carbolsäure bekannt geworden sind. Es dürfte somit eine chemische Reaction auf Carbolsäure, durch welche der praktische Arzt in die Lage versetzt wird, geringe Mengen Carbolsäure im Harn schnell und sicher nachzuweisen, mit Freude zu begrüssen sein. Die Reactionen auf reines Phenol sind zuverlässig, scharf und leicht ausführbar. Versetzt man eine verdünnte Phenollösung mit einer wässerigen Lösung von Eisenchlorid, so erhält man eine schöne blaue Färbung. Es wird das Eintreten der Reaction verhindert durch Zusatz

1) Pflüger's Archiv Band XII.

von Weinsäure, Alcohol und ferner, wie dies neuerdings von Dr. R. Fleischer constatirt worden ist, durch saures phosphorsaures Natron; es genügen schon geringe Mengen des letztgenannten Körpers, um das Zustandekommen der Blaufärbung zu verhindern. Eine weitere Reaction auf Phenol, welche ebenfalls ziemlich scharf und zuverlässig ist, wird in der Weise ausgeführt, dass die Phenollösung erst mit einigen Tropfen Ammoniak und dann mit Chlorkalk versetzt und mässig erwärmt wird, es entsteht dann schon in einer sehr verdünnten Phenollösung eine wunderschön blaue, ins Grünliche spielende Färbung. Eine dritte Probe auf Phenol besteht ebenfalls in einer Farbenreaction. Versetzt man eine Phenollösung mit Millon'schem Reagens (eine Lösung von Quecksilber in Salpetersäure), so erhält man beim Erwärmen eine prachtvoll rothe Färbung. Setzt man zum normalen Harn Phenol in ziemlich reichlicher Menge, so bleibt die Reaction mit Eisenchlorid, selbst wenn der Harn ganz deutlich nach Phenol riecht, aus. Fällt man mit Barytmischung, wie dieselbe zur Ausfällung der Phosphor- und Schwefelsäure bei der quantitativen Bestimmung des Harnstoffs benutzt wird, die genannten Säuren aus und versetzt das Filtrat mit Eisenchlorid, so bleibt ebenfalls die Eisenchloridreaction aus; es müssen demnach ausser dem sauren phosphorsauren Natron im Harn noch andere Stoffe vorhanden sein, welche die Eisenchloridreaction verhindern. Wird zum Harn, welcher Phenol enthält, Ammoniak und Chlorkalk gesetzt, so erhält man, wenn der Harn 1% Phenol enthält, noch eine deutliche Blaufärbung; enthält derselbe jedoch nur 0,5%, so bleibt die Blaufärbung bereits aus; wird jetzt mit Barytmischung der Harn gefällt, so zeigt sich im Filtrat bei Behandlung mit Chlorkalk und Ammon wiederum eine schwache Blaufärbung, bei stärkerer Verdünnung dagegen tritt dieselbe nicht mehr ein. Die Reaction wird, wie dies dahingehende Versuche sehr bald zeigten, ebenfalls durch Mononatriumphosphat zum Theil verhindert, nicht dagegen durch Dinatriumphosphat.

Wird nun der Urin, welcher circa 0,5% Phenol enthält und die Chlorkalkreaction nicht mehr gibt, vor der Anstellung der Reaction mit Kalilauge alkalisch gemacht, dann tritt wiederum die Blaufärbung ein, so dass dadurch die Schärfe der Reaction etwas vergrössert wird. Immerhin ist dieselbe für den Nachweis des Phenols im Harn eine sehr geringe und die Blaufärbung höchstens bei einem 0,3%igen Phenolgehalt des Harns nachweisbar. Bei den folgenden Untersuchungen zeigte sich, dass der Nachweis von Phenol im Harn durch das Millon'sche Reagens noch die meisten Aussichten bietet. Setzt man 1 gr Phenol zu 100 gr Harn, so erhält man nach Zusatz von Millon'schem Reagens beim Erwärmen eine wunderschöne Rothfärbung; der entstehende Niederschlag ist nur schwach rosa gefärbt, dagegen die darüberstehende Flüssigkeit prachtvoll roth. Da auch eiweisshaltiger Urin mit dem Millon'schen Reagens eine Reaction gibt, so wurde mit solchem die Probe angestellt; doch unterscheidet sich das Resultat von dem oben angegebenen dadurch, dass hier das coagulirte Eiweiss nur rosaroth gefärbt ist, während die Flüssigkeit ungefärbt bleibt. Wurde der Harn mit anderem normalen Harn, welcher die Probe nicht gab, allmählich immer stärker verdünnt, so zeigte sich, dass bei einem Gehalt von Phenol auf 1 : 3000 Harn die Reaction noch prägnant, bei 1 : 4000 dagegen nicht mehr ganz deutlich war. Es lässt sich mithin Phenol im Harn, wenn der Prozentgehalt nicht weniger als 0,03% beträgt, noch sicher nachweisen, während die Reaction bei einer reinen Phenollösung fast 100mal schärfer ist. Es müssen demnach im Harn Stoffe vorhanden sein, welche auch die Schärfe dieser Reaction herabsetzen. Es wurde nun eine grössere Anzahl von normalen Urinen mit dem Millon'schen Reagens behandelt, um zu sehen, ob hier die Reaction auch eintrete, und es zeigte sich, dass nur diejenigen Urine, in welchen bei der Destillation sicher Phenol aufgefunden werden konnte, ein positives Resultat ergaben, während diejenigen, welche phenolfrei waren, sich

höchstens gelb, niemals aber roth beim Erwärmen mit dem Millon'schen Reagens färbten. Es ist also die Reaction mit dem Millon'schen Reagens für den Nachweis der Carbolsäure im Harn dem Practiker zu empfehlen, wenn auch zu betonen ist, dass die Reaction nicht gerade als eine sehr scharfe zu bezeichnen ist, so dass geringe Mengen von Phenol im Harn dem Nachweis entgehen. Für solche Fälle, wo es darauf ankommt, auch geringe Mengen Carbolsäure im Harn aufzufinden, bleibt nichts Anderes übrig, als grössere Mengen des zu untersuchenden Urins mit Schwefelsäure stark anzusäuren, dann zu destilliren und das Destillat qualitativ auf Phenol mit den genannten Proben zu prüfen und, wenn dies von Interesse ist, das Phenol mit Bromwasser als Tribromphenol auszufällen und als solches quantitativ zu bestimmen. Es ist dabei aber immer zu berücksichtigen, dass auch Salicylsäure und andere Stoffe, welche bei der Destillation des Harns mitübergehen, durch Brom gefällt werden.

Der quantitative Nachweis des Phenols im Harn hat neuerdings wiederum ein grösseres Interesse in Anspruch genommen, seitdem Nencki und Sieber[1]) eine grössere Reihe von Versuchen angestellt haben, um die Oxydation im Thierkörper durch die quantitative Bestimmung des Phenols nach Zufuhr bestimmter Mengen Benzol zu bestimmen. Nencki und Sieber gingen dabei von der Thatsache aus, welche seiner Zeit von Nencki und Giacosa gefunden worden war, dass Benzol im Organismus zu Phenol, Brenzkatechin und Hydrochinon oxydirt wird. Es werden diese Oxydationsproducte theilweise als Aetherschwefelsäuren, theilweise als Paarlinge der Glycouronsäure mit dem Harn aus dem Organismus ausgeschieden. Die Verfasser fanden nun, dass bei Krankheiten sehr verschiedene Mengen Phenol

1) Ueber eine neue Methode, die physiol. Oxydation zu messen und über den Einfluss der Gifte und Krankheiten auf dieselbe. Archiv für die G. Ph. B. 31, 319—350.

aus der gleichen Menge Benzol gebildet werden, und so lag der Gedanke nahe, zu untersuchen, ob die Menge des Phenol, welche aus einer stets gleichen Benzolgabe entsteht, nicht als Maass für den Verlauf der Oxydationsprocesse im Organismus dienen könne. Bei einer grösseren Reihe von Thierversuchen (Hunde und Kaninchen) fanden sie, dass die Versuchsthiere bei gleicher Benzolzufuhr zu verschiedenen Zeiten die gleiche Menge Phenol bildeten und ausschieden. Hunger und unzureichende Ernährung haben auf die Phenolbildung nur einen geringen Einfluss. Bei den Versuchen am gesunden Menschen zeigte es sich, dass auch hier zu ganz verschiedenen Zeiten aus denselben Mengen Benzol die gleiche Menge Phenol im Organismus gebildet wurde. Die Arsensäure und arsenige Säure sind ohne Einfluss auf die Phenolbildung, dagegen wird dieselbe durch Anästhetica (Chloroform, Chloralhydrat) herabgesetzt. Auf die Resultate dieser Versuche fussend betrachten die Verfasser ihre Methode nur als eine Ergänzung der quantitativen Respirationsversuche und empfehlen sie den Aerzten zu vergleichenden Versuchen an demselben Individuum. Angeregt durch jene Arbeit von Nencki und Sieber habe ich es mir zur Aufgabe gesetzt, im Laboratorium der medicinischen Klinik bei einer grösseren Anzahl von hauptsächlich gesunden Individuen jene Versuche zu wiederholen, um später dann auch bei verschiedenen Krankheiten die Phenolbildung und Phenolausscheidung zu verfolgen. Leider stellten sich der Ausführung dieser Arbeit verschiedene Schwierigkeiten entgegen; es zeigte sich nämlich sehr bald, dass grössere Mengen Benzol, wie sie von Nencki und Sieber beim Menschen bis zur Höhe von 2 gr gegeben worden sind, von vielen Individuen absolut nicht vertragen werden. Wurde nur 1 gr Benzol in capsula gelatinosa per os zugeführt, so stellten sich bei verschiedenen Individuen Aufstossen und Erbrechen ein, so dass auf diese Weise eine nicht zu berechnende Menge von Benzol wieder verloren ging. Einzelne Individuen weigerten sich, zum zweiten

Mal Benzol zu nehmen, und da zu verschiedenen Zeiten nach Benzolgenuss die Phenolausscheidung controlirt werden musste, so konnten sich die Versuche nur auf eine kleine Zahl von Beobachtungen beschränken. Ferner machte sich von vornherein das Bedenken geltend, dass ja auch schon der normale Urin ohne vorhergegangene Benzolzufuhr wechselnde Mengen Phenol enthalte, und dass ferner, wie dies früher ausgeführt wurde, besonders bei Stuhlverstopfung die Phenolausscheidung sehr beträchtliche Werthe erreicht. Es musste desswegen auch der Urin bei den Versuchsindividuen vor oder nach dem Versuch geprüft werden, ob die Phenolausscheidung nicht über die normalen Werthe hinausgehe. Ein zweites Bedenken, welches gegen die Schlussfolgerungen der Versuche geltend gemacht werden könnte, wäre das, ob der aus dem Harndestillat durch Fällung mit Brom gewonnene und gewogene Niederschlag wirklich auch nur als Tribromphenol in Rechnung zu bringen war, da ja Brom auch andere Körper fällt. Allerdings ist dieses Bedenken durch die so übereinstimmenden Resultate von Nencki und Sieber sehr beträchtlich vermindert worden. Selbstverständlich wurden zu den Versuchen nur solche Individuen gewählt, welche keine Salicylsäure oder Antipyretica (Antipyrin, Thallin) erhalten hatten. Nachdem die Versuchspersonen in unserer Gegenwart 0,5 gr. Benzol in capsula gelatinosa genommen hatten, und constatirt worden war, dass kein Erbrechen und Aufstossen sich geltend machten, wurde der Harn von 24 Stunden unter genauer Controle gesammelt, genau gemessen und ein je nach der Menge wechselnder Theil mit Schwefelsäure stark angesäuert und so lange destillirt, bis eine Probe des Destillats mit Bromwasser keine Fällung mehr gab. Die gesammte Menge des Destillats wurde mit Bromwasser so lange versetzt, bis kein Niederschlag mehr entstand; letzterer setzte sich in der Kälte in einem Theil der Fälle krystallinisch, in einem andern amorph ab. Ein Ueberschuss von Bromwasser ist bei der Fällung zu vermeiden, weil sonst leicht eine in

Wasser zum Theil lösliche Verbindung von Tribromphenolbrom entsteht. Der Niederschlag wurde später auf ein gewogenes Filterchen gebracht und so lange ausgewaschen, bis das Filtrat farblos war, später bei 60° ebenso wie das Filterchen getrocknet und gewogen. In derselben Weise wurde der Harn von den Versuchspersonen zu anderen Zeiten, ohne dass sie Benzol genommen hatten, behandelt, um einen Vergleich der Phenolausscheidungen zu erhalten. Die Resultate jener Versuche finden sich in den beifolgenden Tabellen:

Name	Datum	Gesammtmenge des Urins	verarbeitete Menge	Benzolgabe	Phenolgehalt des Urins
Kobmann.	21|22 I	1380 cc	250 cc	0	0 Ph.
	30|31 I	1500 cc	300 cc	0,5	0,075 Tribromphenol= 0,021 Phenol p. d.
Weiss.	21|22 I	2680 cc	400 cc	0	0,139 Tbph.=0,039 Ph. p. d.
	3|4 II	1690 cc	250 cc	0,5	0,23 Tbph.=0,082 Ph. p. d.
Trebinger.	30|31 I	1740 cc	250 cc	0	Unwägbare Spuren v. Tbph.
	3|4 II	970 cc	200 cc	0,5	0,49 Tbph.=0,138 Ph. p. d.
	21|22 II	1820 cc	300 cc	0,5	0,491 Tbph.=0,139 Ph. p. d.
Schwarz.	2|3 II	2150 cc	400 cc	0,5	0,3655 Tbph.=0,103 Ph. p. d.
	3|4 II	1830 cc	300 cc	0,5	0
	5|6 II	1640 cc	250 cc	0,5	0,521 Tbph.=0,147 Ph. p. d.
	18|19 II	940 cc	200 cc	0	0
	23|24 II	1950 cc	300 cc	0,5	0,760 Tbph.=0,215 Ph. p. d.
	24|25 II	1730 cc	300 cc	0	Spuren v. Tbph.
	27|28 II	1390 cc	250 cc	0	0

Name	Datum	Gesammtmenge des Urins	verarbeitete Menge	Benzolgabe	Phenolgehalt des Urins
Walch.	2/3 II	1640 cc	250 cc	0	0 Ph.
	3/4 II	650 cc	150 cc	0,5	0,2635 Tbph.=0,0748 Ph. p. d.
	18/19 II	1230 cc	250 cc	0	0
	23/24 II	1930 cc	350 cc	0	0
	27/28 II	1530 cc	250 cc	0	0
Finzel.	5/6 II	1670 cc	250 cc	0	Unwägbare Spuren
	8/9 II	1320 cc	250 cc	0,5	0,2 Tbph.=0,057 Ph. p. d.
Fleischmann.	3/4 II	1500 cc	250 cc	0	0
	14/15 II	1330 cc	250 cc	0	0
	18/19 II	850 cc	200 cc	0,5	0,277 Tbph.=0,07864 Ph. p. d.
	22/23 II	950 cc	200 cc	0	0,032 Tbph.=0,0091 Ph. p. d.
	27/28 II	1470 cc	250 cc	0	Unwägbare Mengen v. Tbph.
Walz.	3/4 II	640 cc	250 cc	0	0
	8/9 II	340 cc	100 cc	0,5	0,214 Tbph.=0,061 Ph. p. d.
Herrmann.	5/6 II	1430 cc	250 cc	0	0
	8/9 II	1020 cc	250 cc	0,5	0,081 Tbph.=0,023 Ph. p. d.

Name	Datum	Gesammtmenge des Urins	verarbeitete Menge	Benzolgabe	Phenolgehalt des Urins
Schörner.	5|6 II	530 cc	150 cc	0	0,015 Tbph.=0,0042 Ph.
	8|9 II	500 cc	150 cc	0,5	0,3 Tbph.=0,085 Ph. p. d.
Stoll.	5.6 II	530 cc	150 cc	0	0,015 Tbph.=0,0042 Ph.
	8 9 II	680 cc	200 cc	0,5	0,13 Tbph.=0,036 Ph.
Dechant.	18 19 II	980 cc	200 cc	0	Unwägbare Spuren v. Tbph.
	23 24 II	1110 cc	200 cc	0,5	0,26 Tbph.=0,074 Ph. p. d.
	24 25 II	940 cc	200 cc	0	0
Wrede.	21 22 II	1100 cc	300 cc	0,5	0,67 Tbph.=0,18 Ph. p. d.
Bäuerle.	23 24 II	1100 cc	250 cc	0	0
	24 25 II	720 cc	200 cc	0,5	0,361 Tbph.=0,101 Ph. p. d.
	2|3 III	630 cc	200 cc	0,5	0,422 Tbph.=0,119 Ph. p. d.

Es bestätigen dieselben die Behauptung von Nencki und Sieber, dass bei verschiedenen Individuen die Phenolausscheidung nach Benzolzufuhr eine sehr verschiedene ist, aber sie zeigen auch, dass bei scheinbar ganz gesunden Individuen jene Ausscheidung eine beträchtlich verminderte sein kann und dass dieselbe nicht an die Werthe heranreicht, welche von Nencki und Sieber bei normalen Menschen gefunden worden sind. Es bleibt immerhin nicht ausgeschlossen, dass bei denjenigen Versuchen, bei welchen eine bedeutende Herabsetzung der Phenolausscheidung zu constatiren war, ein Theil des Benzol durch Aufstossen späterhin noch entfernt oder mit den faeces abgeführt wurde. Eine solche Annahme würde aber nur beweisen, dass die von Nencki und Sieber vorgeschlagene Methode zur Messung der Oxydationsvorgänge im Organismus practisch im grossen Massstabe schwer durchführbar ist, da jene Uebelstände schwer zu vermeiden sind. Nur bei einzelnen Versuchen zeigte sich, dass zu verschiedenen Zeiten bei denselben Individuen bei gleicher Benzolzufuhr die ausgeführte Phenolmenge gleich war. Bei Anderen schwankten die gefundenen Phenolmengen sehr beträchtlich, so dass bei einem Versuche das Doppelte der Phenolmenge gefunden wurde verglichen mit der Phenolmenge an einem andern Tage. Ferner zeigte es sich, dass bei einigen Versuchspersonen auch ohne Benzolzufuhr die Phenolausscheidung eine nicht unbeträchtliche war. Auf Grund dieser Beobachtungen dürfte es angezeigt sein, die von rein theoretischem Standpunkte aus so geistreich erdachte Methode von Nencki und Sieber in Bezug auf die practische Verwerthung und Beurtheilung nur mit einer gewissen Vorsicht aufzunehmen. Es dürfte sich dagegen empfehlen, nach einer chemischen Verbindung zu suchen, welche im menschlichen und thierischen Organismus leicht oxydirt wird und deren Oxydationsprodukte auch unter normalen Verhältnissen nicht im Harn vorkommen und sicher und leicht quantitativ bestimmt werden können. Vielleicht wäre zu solchen Versuchen das Salicin oder Sali-

genin zu empfehlen, welches im Organismus zu Salicylsäure wird, deren quantitative Bestimmung vielleicht auf colorimetrischem Wege auch ohne Destillation leicht ausführbar wäre und behält sich Dr. R. Fleischer solche Versuche für die Zukunft noch vor.

Ziehen wir aus den angestellten Beobachtungen das Facit, so ergibt sich, dass zum quantitativen Nachweis des Phenols im Harn allein die Reaction mit dem Millon'schen Reagens zuverlässig und dem Praktiker zu empfehlen ist, dass aber auch diese Reaction die zum Nachweis kleiner Mengen erwünschte Schärfe nicht besitzt, dass fernerhin die nach Benzolzufuhr im Harn ausgeschiedene Menge Phenol nicht immer, wie dies Nencki und Sieber voraussetzen, ein genaues Mass für die Oxydation im Thierkörper zu bilden vermag.

Zum Schlusse sei es mir gestattet, meinen verehrten Lehrern, Herrn Prof. Dr. Penzoldt für die gütige Ueberlassung des Materials und Herrn Privatdocenten Dr. R. Fleischer für die freundliche Anleitung und Unterstützung bei dieser Arbeit meinen herzlichsten Dank auszusprechen.